

이유자돈의 사료 첨가제로서 Copper Chelates(메치오닌, 키토산, 효모)의 효과

김병한·임희석·남궁환·백인기

중앙대학교 산업과학대학 동물자원과학과

Effect of Copper Chelates(Methionine-Cu, Chitosan-Cu and Yeast-Cu) as the Supplements to Weaning Pig Diet

B. H. Kim, H. S. Lim, H. Namkung and I. K. Paik

Department of Animal Science and Technology, College of Industrial Science, Chung-Ang University

ABSTRACT

An experiment was conducted to study the effects of the dietary Cu sources on the performance of the weanling pigs. Forty-eight, 24 in each sex, 4 weeks old pigs were assigned to four treatments; control, methionine-Cu chelate, chitosan-Cu chelate or yeast-Cu chelate. Control diet contained 136ppm Cu to which additional 100ppm Cu in different chelated form was added to the respective treatment. Individual pig weight and feed intake of each pen were recorded weekly for 5 weeks. Average daily feed intakes(ADFI), average daily gains(ADG) and ADFI/ADG were not significantly different among treatments. Nutrient availability was not also significantly affected by treatments. Serum triglyceride concentration of chitosan-Cu treatment was significantly lower than those of methionine-Cu and yeast-Cu treatments but was not significantly different from that of the control. Serum cholesterol concentration of yeast-Cu was significantly lower than those of the control and methionine-Cu but was not significantly different from that of chitosan-Cu treatment. Serum HDL-cholesterol concentration was not significantly affected by treatments. Serum IgG concentrations of all copper treatments were significantly lower than that of the control. It was concluded that Cu-chelates supplemented to the basal diet (136ppm Cu) by the level of 100ppm Cu did not significantly affect growth performance of weaning pigs. However, serum parameters of cholesterol, cholesterol and IgG were significantly affected by the treatments.

(Key words : Chelates, Copper, Methionine-Cu, Chitosan-Cu, Yeast-Cu)

I. 서 론

돼지에서 높은 수준의 구리 공급은 성장률과 사료 섭취량, 사료효율에 개선을 가져왔다 (Braude, 1967; Edmonds 등, 1985). 특히 CuSO₄ · 5H₂O 형태로 구리를 125~250 ppm의 공급 시 성장율을 개선하는 것으로 알려져 널리 사용되

어 왔다. Cu 125~250 ppm의 공급은 육계에서 혈액과 가슴근육 콜레스테롤의 함량을 감소시킨다(Pesti와 Bakalli, 1996). 그리고, 구리 250 ppm의 공급은 비육돈의 등지방내 포화지방산을 감소시키고, 불포화지방산을 증가시켰다 (Amer와 Elliot, 1973). Hawbaker 등(1961)과 Stahly 등(1980)에 의하면 구리는 세균발육저지

본 연구는 농림부 농림기술센터의 첨단과제 연구비로 수행되었음.

Corresponding author : I. K. Paik, Dept. of Animal Science, Chung-Ang University, Ansung-Si, Kyonggi-Do, Korea 456-756 ikpaik@cau.ac.kr

능력과 살균능력을 가지고 있는데 Stahly 등 (1980)이 어린 돼지(3~5주령) 사료에 구리 250 ppm을 첨가 했을 때 항생제가 첨가된 사료와 성장효율을 비견할 수 있다고 하였다. 그러나 필수요구량 이상의 구리 사용은 구리의 배설량 증가로 인한 환경문제를 초래하므로 국내외적으로 적정사용수준 250ppm의 절반수준인 100~125ppm으로 상한선을 제한하고 있다. 따라서 낮은 수준의 구리 사용량으로도 생산성 개선효과를 얻기 위해서는 구리를 chelated form(Paik, 2001)으로 공급할 필요가 있다.

Chitosan은 항종양, 항균 및 항곰팡이 활성, 콜레스테롤 감퇴 및 고혈압 억제 작용 등 여러 가지 생리적 특성을 가지고 있음이 밝혀짐으로써 현재 생리기능성 신소재로서 연구개발이 활발히 진행되고 있는 물질이다(Muzzarelli 등, 1990; Kim 등, 1997; Kochkina 등, 2000). Chitosan은 Chitin의 acetyl기가 제거된 구조식을 갖고 있는데 chitin은 pH 6이상에서 Cu²⁺ 이온과 거의 80% 이상의 흡착능을 보였다(최, 1988).

Yeast는 사료 첨가제로써 여러가지 기능성을 가지고 있는데 특히 광물질을 흡수하여 유기태로 전환시키는 능력이 뛰어나며 에너지를 이용하여 다른 미네랄에 비해 특이하게 Cu²⁺를 받아들이는 효모의 구리 흡수에 대한 높은 친화도 시스템이 밝혀졌다(De Rome과 Gadd, 1987; Lin과 Kosman, 1990).

본 실험은 유기태 Cu-chelates로 개발한 methionine-Cu, chitosan-Cu 그리고 yeast-Cu 제품을 자돈에게 급여 했을 때 생산성과 혈액 내 지질 및 IgG의 함량에 미치는 영향을 검토하기 위하여 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험동물 및 시험설계

약 4주령(28일령)의 3원 교잡종(Duroc × Yorkshire × Landrace) 이우자돈 48두(♂ 24, ♀ 24)를 공시하였으며, 시험 개시 평균체중은 7.37 ± 0.1kg이었고, 처리당 12두를 암수 각 2 cage씩, cage당 3두씩 임의로 배치하여 개체를 반복단

위로 하였으며 사료섭취량, 사료 요구율 및 영양소 이용률의 경우는 반복단위를 cage로 하였다.

2. 시험사료

옥수수-대두박 위주의 사료로써 NRC(1998) 사양표준을 기초로 하였다. 본 시험에 사용된 기본 배합표는 Table 1에서와 같고, 처리에 따

Table 1. Formula and composition of pigs basal diets

	Control
Corn	64.35
SBM	23.57
Corn gluten	6.00
Animal fat	2.81
Tricalcium phosphate	1.55
Limestone	0.53
Lysine-HCl(99%)	0.63
Hog primix ¹⁾	0.30
Salt	0.27
Methionine (99%)	0.01
Total	100.00
Calculated composition;	
ME (kcal/kg)	3250
Crude protein (%)	20.00
Lysine (%)	1.25
Methionine (%)	0.35
Tryptophan (%)	0.22
Threonine (%)	0.76
Calcium (%)	0.80
Phosphorus-avail (%)	0.40
Phosphorus-total (%)	0.65
Sodium (%)	0.15
Copper (ppm) ²⁾	136

¹⁾ Hog premix contains the followings per kilogram : Vitamin A, 12,000,000IU; vitamin D₃, 2,000,000IU; vitamin E, 35,000mg; vitamin K₃, 3,300mg; Pantothenic acid, 20,000mg; vitamin B₂, 3,000mg; vitamin B₁₂, 33,000µg; Niacin, 30,000mg; Biotin, 100,000µg; vitamin C, 40,000mg; FeSO₄, 73,500 mg; ZnSO₄, 56,000mg; MnSO₄, 15,750mg; CuSO₄, 86,100mg; Ca(IO₃)₂, 175mg; Na₂SO₃, 105mg; CoSO₄, 157mg; S, 17,500mg.

²⁾ Assayed value.

라 기초 대조구 사료에 Paik 등(1999)의 방법으로 제조한 methionine-Cu와 이 등(2001)의 방법으로 제조한 chitosan-Cu 및 김 등(2001)의 방법으로 제조한 yeast-Cu를 각각 Cu 100ppm 수준에서 첨가하였다.

Methionine-Cu구 : methionine-Cu(Cu 함량 16.5%) 61g/100kg

Chitosan-Cu구 : chitosan-Cu(Cu 함량 7.18%) 140g/100kg

Yeast-Cu구 : yeast-Cu(Cu 함량 2.2%) 500g/100kg

3. 사양관리 및 대사시험

공시 자돈들을 cage에 배치한 후 시험 시작하기 전 4일간의 적응기간을 가진 후 5주간의 사양시험을 실시하였다. 시험 기간동안 사료와 물은 자유 급식케 하였다.

증체량과 사료 섭취량은 매주 측정하였다. 대사 시험은 사양시험 4주째에 Cr₂O₃를 사료내 0.4% 첨가하여 3일간 하루에 2회씩 채취하여 60℃의 건조기에서 72시간 건조 후 분쇄하여 공시하였다.

4. 채혈

5주간의 사양시험을 종료 후 모든 자돈의 경정맥에서 채혈하여 상온에서 약 2시간 방치하여 혈액을 응고시킨 후 4℃ 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 혈청을 채취 -20℃에서 보관하였다.

5. 일반 조성분 분석 및 광물질 함량 측정

사료의 조성분은 AOAC(1990) 방법에 준하여 실시하고, 사료와 분내 Cr와 Cu의 농도는 시료를 HNO₃와 HCl로 전처리 한 다음 ICP (Inductively Coupled Plasma) 분광기를 이용하여 측정한다.

6. 소화율 측정

일반성분의 소화율은 간접방법으로 다음의 계산식에 의하여 구하였다.

영양소 소화율 (%)

$$= 100 \times \{1 - (\text{사료중의 Cr 함량 \%} \times \text{분중의 영양소 함량 \%}) / (\text{분중의 Cr 함량 \%} \times \text{사료중의 영양소 함량 \%})\}$$

7. 혈청내 IgG 농도 및 Triglyceride, Total Cholesterol and HDL-cholesterol 함량 측정

혈청 내 IgG 농도는 Mancini (1965)에 의해 개발된 single radial immuno-diffusion test (RID test)법에 준하여 측정한다. 혈청내 triglyceride, total cholesterol and HDL-cholesterol 함량측정은 Sigma Diagnostic Kits (No. 352, Total Cholesterol; No. 352-3, HDL; No. 336, Triglyceride)를 이용하여 분석하였다.

8. 통계처리

실험 결과들은 SAS®(1990)의 GLM(general Linear Model) Procedure를 통해 분석하였으며, 처리 평균치간 차이의 검정은 Duncan's new multiple range test로 p<0.05 수준에서 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

5주간 사양시험의 성적(Table 2)을 보면 처음 3(1~21d)주간은 증체량에서 chitosan-Cu 처리가 조금 낮았지만 유의차는 없다. 사료섭취량은 chitosan-Cu 처리구가 적었지만 역시 유의차는 없었다. 사료전환율에서 chitosan-Cu 처리구가 낮지만 유의차는 없었다. 후반 2주(22~35d)동안 증체량을 보면 chitosan-Cu 처리구가 증체량이 비교적 높고 yeast-Cu 처리가 낮으나 유의차는 없었다. 사료 섭취량에서는 methionine-Cu구가 낮고 chitosan-Cu 구가 높으나 유의차는 없었다. 사료 전환율은 methionine-Cu구가 낮으나 역시

Table 2. Effect of Cu-chelate on the performance of weanling pigs fed 35 days

	Treatments				SEM	
	Control	Methionine-Cu	Chitosan-Cu	Yeast-Cu		
Initial wt (kg)	7.37	7.36	7.36	7.42	0.10	
Final wt (kg)	21.66	21.69	21.78	21.39	0.41	
0~21 days	ADG (g)	348.02	346.89	340.11	341.61	13.28
	ADFI (g)	574.47	573.83	553.06	566.98	32.42
	ADFI/ADG	1.65	1.65	1.63	1.66	0.09
22~35 days	ADG (g)	498.75	502.83	517.92	485.47	13.14
	ADFI (g)	1003.00	965.75	1008.75	980.00	49.74
	ADFI/ADG	2.01	1.92	1.98	2.02	0.09
0~35 days	ADG (g)	408.31	409.26	411.23	399.14	10.91
	ADFI (g)	745.94	730.63	738.85	732.24	37.29
	ADFI/ADG	1.83	1.79	1.81	1.83	0.07

유의차는 없었다. 전 기간을 보면 일당 증체량은 chitosan-Cu 처리구가 높았고, yeast-Cu 처리구가 낮았지만 유의차는 없다. 마찬가지로 사료 섭취량과 사료 전환율도 처리간에 유의한 차이가 없었다.

Stahly 등(1980)이 실험한 28±2일령의 6.75kg 돼지에서 14일간 실험한 결과 Cu 125ppm 첨가구가 대조구보다 높은 증체량과 사료섭취량을 보였다. 일당 증체량이 226g에서 260g으로 증가하였고, 섭취량은 430g에서 497g로 증가하였다. 그리고, Cromwell 등(1998)이 27일령의 이 유자돈을 31일동안 실험한 결과 증체량에서 구리 200ppm(CuSO₄) 첨가구가 대조구보다 높았고(p<0.08) 사료 섭취량도 마찬가지로 구리 첨가구가 대조구보다 높았다(p<0.01). 하지만 Stanbury 등(1990)은 CuSO₄, inorganic(EDTA) chelated Cu와 organic (amino acids or polysaccharides) chelated Cu로 28±2일령 돼지에서 단계별로 실험을 하였다. 여기서 6.4~18kg 단계에서 증체량, 사료 섭취량과 사료효율을 보면

본 실험과 마찬가지로 유의차가 없었다. 그런데 18~64kg 단계에서 보면 Cu 125ppm 처리구들에서 유의하게 생산성을 개선시켰다. Cu (copper sulfate)를 100~250ppm 급여 할 때 돼지의 성장을 자극한다(Braude 등, 1967; Cromwell 등, 1997). Cromwell 등(1998)이 대조구와 구리 (Cu[OH]₂Cl)를 100, 150과 200ppm씩 첨가가하여 실험한 결과 증체량에서 150ppm 첨가구(599g)와 200ppm 첨가구(589g)간에 차이를 보이지 않았다. 본 실험에서 대조구의 Cu 함량이 136ppm으로 이미 요구량보다 훨씬 높아 Cu 100ppm을 추가로 첨가한 처리구들과 유의적 차이를 보이지 않았으며 chelate 형태도 영향이 없었던 것으로 사료된다.

Table 3은 시험사료의 영양소 이용률 실험의 결과이다. 고형물, 조단백, 조지방, 조회분과 NFE에서 처리간에 유의차를 보이지 않았다. 조회분의 이용률을 보면 methionine-Cu구가 chitosan-Cu와 yeast-Cu구보다 낮았으나 유의차는 없었다.

Table 3. Nutrient digestibility of experimental diets

Item(%)	Treatments				SEM
	Control	Methionine-Cu	Chitosan-Cu	Yeast-Cu	
DM	82.55	82.87	83.26	83.96	0.65
Crude protein	78.48	78.31	79.32	80.38	0.73
Ether extract	61.31	60.30	60.65	59.07	2.77
Crude ash	52.64	50.80	58.86	59.79	4.63
NFE	89.59	90.51	89.59	90.33	0.76

Table 4. Serum Triglyceride, total cholesterol and HDL-cholesterol of pigs fed experimental diets

	Treatments				SEM
	Control	Methionine-Cu	Chitosan-Cu	Yeast-Cu	
Triglyceride (mg/dL)	40.43 ^{ab}	52.67 ^a	34.99 ^b	49.91 ^a	4.73
Total cholesterol (mg/dL)	99.43 ^a	95.55 ^a	90.63 ^{ab}	81.49 ^b	3.33
HDL-cholesterol (mg/dL)	28.44	28.87	22.27	24.39	2.68

^{a-b} Values with different superscripts in the same row are significantly different ($p < 0.05$).

Triglyceride, total cholesterol과 HDL-cholesterol의 혈청 내 함량(Table 4)을 보면 triglyceride에서 chitosan-Cu 처리구가 methionine-Cu와 yeast-Cu 처리보다 유의하게 낮았으나 대조구와는 유의한 차이가 없었다. Total cholesterol은 yeast-Cu 처리가 대조구나 methionine-Cu보다 유의하게 낮았으며 chitosan-Cu와는 유의차가 없었다. HDL-cholesterol은 methionine-Cu 처리와 대조구가 타 처리구들 보다 높았으나 유의차는 없었다.

Paik 등(1999)이 육계에서 실험한 결과에서 cholesterol 함량을 보면 대조구가 151.5mg/dL로 높고 CuSO₄-250 처리가 126.8mg/dL로 낮게 나왔고 methionine-Cu-125 처리는 138.7mg/dL로 낮으나 유의차는 없었다. HDL은 대조구보다 모든 처리구에서 높았으나 유의차는 없었다. 한편, Engle 등(2000)의 실험에서 숫송아지의

triglyceride 함량은 대조구, Cu-citrate와 Cu-proteinate 처리구에서 처리간에 비슷한 결과를 보였고 HDL 함량은 대조구보다 Cu-chelate 첨가구에서 낮은 함량을 보였으나 유의차는 없었다.

혈청내 IgG농도(Fig. 1)는 Cu 처리구들(methionine-Cu; 23.06 mg/mL, chitosan-Cu; 19.46 mg, yeast-Cu; 21.73 mg)이 대조구(30.00mg)보다 낮았다.

Yeast-chelate에서 효모는 맥주효모를 이용하였고 이 효모는 전축중에 단백질 공급원으로 이용되고 있다. 효모의 세포벽은 전체 무게의 약 30%를 차지하고 있는 올리고당으로 되어 있다(Lyons 등, 1986). Spring과 Privulescu(1998)는 올리고당이 자돈의 면역체계에 미치는 영향을 구명하고자 무균돈구와 일반돈구에 올리고당을 급여하여 면역반응을 조사하고 다음과 같

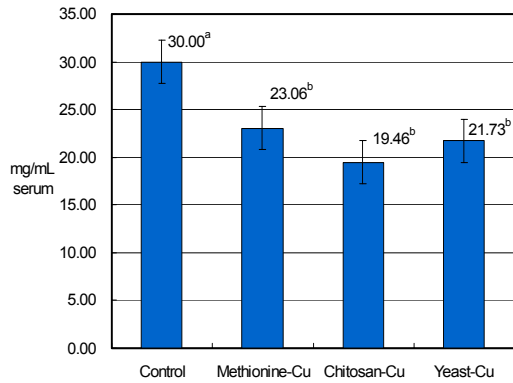


Fig. 1. Serum IgG of pigs fed experimental diets.

^{a,b} Values with different superscripts in the same row are significantly different ($p < 0.05$).

은 결과를 제시하였다. 올리고당의 첨가는 무균돈구와 일반돈구 모두에서 immunoglobulin의 농도를 증가 시켰다. 하지만 일반돈구의 혈청 IgG의 양은 차이를 보이지 않았다. 오히려 대조구(1,638 mg/100mL)가 첨가구(1,619 mg/100 mL)보다 조금 높았다. Dréau와 Lallès(1999)가 자돈에게 낮은 항원성사료를 공급한 처리구가 대조구에 비하여 낮은 IgG 농도를 보였다. 그리고, 이것은 항생제, 구리와 아연 등에도 낮은 항원사료라는 개념을 적용할 수 있다고 하였다. 한편 김 등(1997)은 자돈 설사를 일으키는 대장균에 대해 키토산의 항균효과를 조사하였는데 키토산 첨가구에서 대장균에 대한 항균작용이 있다고 밝혔다. 본 실험에서도 다른 Cu-chelate 첨가구 보다 chitosan-Cu 첨가구가 더 낮은 IgG 함량을 보였는데 유의성은 없었다. 본 실험에서 Cu-chelate 처리구가 대조구에 비해 혈청 IgG 수준이 낮은 것은 소화기에서 항생제와 같은 살균작용을 통하여 항원성 인자를 감소 시킴으로서 면역계에 적은 자극을 준 결과라고 추정할 수 있다. 또 Cu나 항생제의 효과는 새로운 또는 청결한 시설에서 실험하거나 건강한 동물에서는 효과를 거의 보이지 않는다(Kornegay 등, 1975). 본 실험은 실험돈사에서 청결한 cage 사육으로 이루어졌고 대조구 사료에 이미 약리적사용 수준에 가까운 136 ppm의 구리가 함유되어 있어 Cu-chelates에 의

한 Cu의 추가적 공급이 생산성에 유의한 차이를 나타내지 못한 것으로 사료된다. 그러나 혈청의 지질과 IgG 수준에는 유의한 영향을 미쳤는데 혈청 triglyceride는 chitosan-Cu 처리에서 감소되었으며, total cholesterol은 yeast-Cu 처리에서 감소되었고, Cu-chelate 첨가구들에서 IgG가 감소되었다.

IV. 요약

본 시험은 이유자돈사료에 Cu-chelates를 첨가시 자돈의 생산성과 혈액지질 및 IgG 수준에 미치는 영향을 측정하기 위하여 실시하였다. 4주령 된 이유자돈 48마리(암·수 각 24마리)를 4처리 4반복으로 반복 당 3마리씩 암수 구별하여 실시하였다. 본 시험에서 사용된 대조구 사료에는 137ppm의 구리가 함유되어 있으며 각 처리구는 대조구사료에 methionine-Cu chelate, chitosan-Cu chelate와 yeast-Cu chelate를 Cu 100ppm 수준에서 각각 첨가하였다. 5주간의 사양기간 동안 증체량은 개체 단위로, 사료섭취량은 pen 단위로 매주 측정을 하였다.

일당 증체량, 사료 섭취량, 사료효율 그리고, 영양소 이용률은 모두 처리간에 유의차를 보이지 않았다. 혈청 내 triglyceride 함량은 chitosan-Cu 처리가 methionine-Cu나 yeast-Cu 처리보다 유의하게 낮았으나 대조구와는 유의한 차이를 보이지 않았다. 혈청 내 cholesterol 함량은 yeast-Cu 처리가 대조구와 methionine-Cu 처리보다 유의하게 낮았지만 chitosan-Cu 처리와는 유의한 차이가 없었다. 혈청 IgG의 함량은 대조구 보다 모든 Cu-chelate 처리구에서 낮게 나타났다.

결론적으로 Cu 137ppm의 대조구 사료에 Cu 100ppm 수준에서 첨가한 Cu-chelates는 이유자돈의 증체량, 사료섭취량과 사료효율에 유의한 영향을 미치지 않았으나, 혈청 내 지질의 조성 과 IgG 함량에는 유의한 영향을 미쳤다.

(색인: Chelate, 구리, 메치오닌-Cu, 키토산-Cu, 효모-Cu)

V. 인용 문헌

1. Amer, A. M. and Elliot, J. I. 1973. Effects of level of copper supplement and removal of supplemental copper from the diet on the physical and chemical characteristics of porcine depot fat. *Can. J. Anim. Sci.* 53:139-145
2. Association of Official Analytical Chemist, 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
3. Braude, R. 1967. Copper as a stimulant in pig feeding (cuprum propecunia). *World Rev. Anim. Prod.* 3:69.
4. Cromwell, G. L. 1997. Copper as a nutrient for animals. Pp. 177-202 in *Handbook of copper compounds and applications*, H. W. Richardson, Ed. New York: Marcel Dekker, Inc.
5. Cromwell, G. L. 1998. Tribasic copper chloride and copper sulfate as copper sources for weaning pigs. *J. Anim. Sci.* 76(1):118-123.
6. De Rome, L. and Gadd, G. M. 1987. Measurement of copper uptake in *Saccharomyces cerevisiae* using a Cu²⁺ selective electrode. *FEMS Microbiol. Lett.* 43:283-287.
7. Dréau, D. and Lallès, J. P. 1999. Contribution to the study of gut hypersensitivity reactions to soybean proteins in preruminant calves and early-weaned piglets. *Livestock production science.* 60: 209-218.
8. Edmonds, J. S., Izquierdo, O. A. and Baker, D. H. 1985. Feed additive studies with newly weaned pigs: Efficacy of supplemental copper, antibiotics and organic acids. *J. Anim. Sci.* 60:462-479.
9. Hawbaker, J. A., Speer, V. C., Hays, V. W., Hawbaker, J. H. and Catron, D. V. 1961. Effects of copper sulfate and other chemotherapeutics in growing swine rations. *J. Anim. Sci.* 20:163.
10. Kim, C. H., Choi, J. W., Chun, H. J. and Choi, S. K. 1997. Synthesis of chitosan derivatives with quaternary ammonium salt and their antibacterial activity. *Polymer Bulletin.* 38(4):387-393.
11. Kochkina, Z. M. and Chirkov, S. N. 2000. Influence of chitosan derivatives on the development of phage infection in the *Bacillus thuringiensis* culture. *Microbiology.* 69(2):217-219.
12. Kornegay, E. T., Thomas, H. R. and Kramer, C. Y. 1975. Effect on subsequent feedlot performance of rotating or withdrawing dietary antibiotics from swine growing and finishing rations. *J. Anim. Sci.* 41:1555.
13. Lin, C. M. and Kosman, D. J. 1990. Copper uptake in wild type and copper metallothionein deficient *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* 265:9194-9200.
14. Lyons, P. 1986. Yeast: out of the black box. *Feed management.* Vol. 37(10):8-14.
15. Mancini, G., Carbonara, A. O. and Heremans, J. F. 1965. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry* 2:235-254.
16. Muzzarelli, R., Tarsi, R., Filippini, O., Giovanetti, E., Graziella, B. and Varaldo, P. E. 1990. Antimicrobial properties of N-carboxybutyl chitosan. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 34(10): 2019-2023.
17. Paik, I. K. 2001. Management of excretion phosphorus, nitrogen and pharmacological level minerals to reduce environmental pollution from animal production. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.* 14 (3):384-394.
18. Paik, I. K., Seo, S. H., Um, J. S., Chang, M. B. and Lee, B. H. 1999. Effects of Supplementary copper-chelate on the performance and cholesterol level in plasma and breast muscle of broiler chickens. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.* 12(5):794-798.
19. Pesti, E. G. and Bakalli, R. I. 1996. Studies on the feeding of cupric sulfate pentahydrate and cupric citrate to broiler chickens. *Poult. Sci.* 75: 1086-1091.
20. Spring, P. and Privulescu, M. 1998. Mannanooligosaccharide: Its logical role as a natural feed additive for piglets. *Proceedings of 8th WCAP, Pre-Conference Symposia.* pp. 21-27.
21. Stahly, T. S., Cromwell, G. L. and Monegue, H. J. 1980. Effects of the dietary inclusion of copper and antibiotics on the performance of weaning pigs. *J. Anim. Sci.* 51:1347-1352.

22. Stansbury, W. F., Tribble, L. F. and Orr, D. E. Jr. 1990. Effect of chelated copper sources on performance of nursery and growing pigs. *J. Anim. Sci.* 68:1318-1322.
23. 김형기, 문성현, 김우연. 2001. 황산동 첨가배지에서 배양한 효모의 구리함량 조사. *유전공학연구논문집. 중앙대학교.* 14(1):81-86.
24. 김희경, 김희선, 강문일, 고흥범, 김종엽, 이응호. 1997. 자돈 설사 유발 대장균에 대한 Chitosan의 항균효과. *한수공보지.* 21(2):97-105.
25. 이윤기, 백인기, 장문백, 손태일. 2001. 고분자량 chitosan mineral chelate의 제조와 사료첨가제로서의 응용. *식량자원연구소 논문집. 중앙대학교.* 13(1):61-68.
26. 최규석. 1988. 천연 chlate 고분자인 chitin의 화학적 처리와 그 금속이온 흡착특성에 관한 연구. *Bulletin of Environmental Science.* 9:13-22.
(접수일자 : 2002. 11. 27 / 채택일자 : 2003. 1. 24)